

七种农药诱发赤麂 (*Muntiacus muntjak*) 离体细胞染色体畸变、姐妹染色单体 交换和细胞周期动力学变化的效应

贺维顺 刘爱华 保海仙

陈永光

(中国科学院昆明动物研究所细胞遗传室)

(浙江省化工研究所农药室)

化学农药对人体健康的直接和潜在的威胁,特别是其致畸、致癌、致突变效应,已引起人们深切的关注,以不同的检测系统研究农药潜在的遗传学效应,并积累这方面的资料,是很有必要的。

我们选择四种有机磷杀虫剂——甲胺磷、乙酰甲胺磷、甲基对硫磷和马拉硫磷,三种农用杀菌剂——敌菌丹、菌核净和敌枯双,在培养的赤麂 (*Muntiacus muntjak*) 成纤维细胞上进行诱发染色体畸变、姐妹染色单体交换和细胞周期延迟效应试验。

染色体畸变分析法筛选化学致癌因子 (Ishidate, Jr, M. et al., 1977) 为公认的细胞遗传学方法之一。七十年代发展起来的姐妹染色单体交换 (SCE) 技术,对于检测可疑的诱变剂或致癌剂是一高度灵敏的指示器,各种已知的诱变剂或致癌剂,即使其浓度在细胞毒理学和致染色体断裂水平以下时,也能诱发 SCE (Latt, 1975; Parry and Evans 1975)。细胞周期延迟现象对大多数诱变剂是特有的 (Craig-Holmes and Shaw, 1976)。培养的细胞在 5-溴脱氧尿苷 (BUdR) 渗入、复制两个周期的染色体标本上,易于对细胞周期加以区分 (Julier R. Honeycombe, 1978; 贺维顺等, 1981; H. H. Chen et al., 1981), 由此可推测待测化合物对细胞周期的延迟效应。

材 料 和 方 法

一、待测农药

七种农药的化学结构式、纯度等详见表 1。实验时,除甲胺磷以 199 培养液溶解稀释外,余均以二甲亚砜为溶剂。

二、细胞株

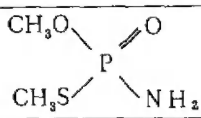
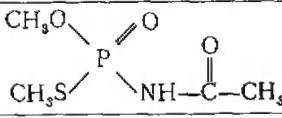
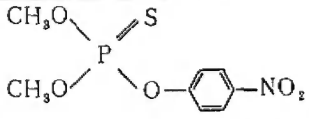
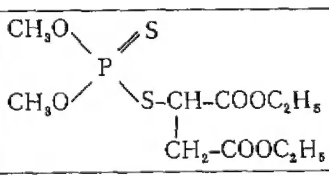
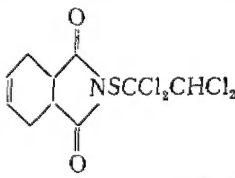
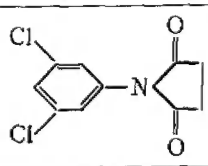
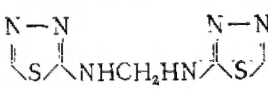
雄性赤麂二倍体细胞株 (KIZ-7901), 染色体数 $2n=7$ 。细胞培养用 100 ml 容积

小方瓶, 内盛含有15%小牛血清及青霉素 (100 i.u./ml) 链霉素 (100 $\mu\text{g}/\text{ml}$) 的199培养液。细胞接种后即加入 BUdR, 使最终浓度为 8 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。37.5°C 避光培养至46小时, 加入待测农药, 2 小时后弃去含有农药的培养液, 以37.5°C预温的 P B S 液洗涤两次, 再换以含同浓度 BUdR 的新鲜培养液, 继续培养22小时, 总培养时间为72小时。

三、观察记录

收获细胞、制片、姐妹染色单体分化染色等, 同以前的描述 (贺维顺等, 1980; 施立明等, 1980; 贺维顺等, 1981), 细胞在 DNA 复制过程中, 由于 BUdR 的渗入, 经制片分化染色后, DNA 一条链被取代的染色单体染成深色, DNA 双链完全被取代的染

表 1 供 试 农 药

中文名称	英文名称	分子量	化学名称	化学结构式	含量
甲 胺 磷	metamidophos	141	0, S-二甲基-硫代磷酸胺		97%
乙酰甲胺磷	acephate	181	0, S-二甲基-N-乙酰基硫代磷酸胺		96.1%
甲基对硫磷	parathion-methyl	263	0, 0-二甲基-O-(对硝基苯基)硫代磷酸酯		98.8%
马拉硫磷	malathion	330	0, 0-二甲基-S-(1, 2-双(乙氧羰基)乙基)二硫代磷酸酯		93%
敌 菌 丹	captan	349	N-(1, 1, 2, 2-四氯乙硫基)环己-4-烯-1, 2-二甲酰亚胺		97%
菌 核 净	dimethachlon	244	N-(3, 5-二氯苯基)丁二酰亚胺		重结晶 纯 品
敌 枯 双	dikushuang	214	N, N'-甲撑-双-(2-氨基-1, 3, 4-噻二唑)		99.3%

成浅色。在诱变因子作用下,同源位置染色单体片段所发生的交换即谓姐妹染色单体交换(SCE)。在显示分化的标本上,可同时镜检记录染色体畸变、SCE及细胞周期动力学变化。

染色体畸变分析基本上按Buckton (1973) 及Evans (1975) 的方法进行(Buckton, K. E. et al., 1973; Evans, H. J. 1975)。SCE 分析记数方法同以往报道(施立明等, 1980; 贺维顺等, 1981)。通过对分化的染色体图象的分析,记录处于第一次(M_1)、第二次(M_2)、第三次和第四次(M_{3+})有丝分裂周期的细胞数,以判断细胞周期动力学变化。在一个细胞的所有染色体中,两条单体均深染者为 M_1 ,一深一浅者为 M_2 ,仅1/4或少于1/4深染者为 M_{3+} (见图2)。

实 验 结 果

七种农药十四个不同剂量组在赤麂离体细胞中诱发染色体结构畸变、姐妹染色单体交换及细胞周期动力学变化的结果分述如下。

表 2 七种农药诱发赤麂离体细胞染色体结构畸变

农药名称	药物浓度		观察细胞数	畸变类型								畸变细胞数	畸变细胞率 (%)
	M	μg/ml		染断色单体裂	等断染色单体裂	不色对单体互染换	对单称性互染换	双着丝点	多着丝点	环状染色体	粉碎性断片		
甲 胺 磷 ^a	3×10 ⁻⁴	42.3	350	4	3	2					1	10	2.86
	1×10 ⁻⁴	14.1	350	1	5				1		1	8	2.29
	3×10 ⁻⁵	4.23	352	4	3						1	8	2.27
对 照(培养基)	0	0	350	3	4							7	2.00
乙 酰 甲 胺 磷 ^b	3×10 ⁻⁴	54.9	329	3	6					1	1	11	3.34
	1×10 ⁻⁴	18.3	381	1	7	1		1				10	2.62
甲 基 对 硫 磷 ^b	1×10 ⁻⁴	26.3	319	4	3	3		1	1			12	3.76
	5×10 ⁻⁵	13.2	320	4	3			1				8	2.50
马 拉 硫 磷 ^b	1×10 ⁻⁴	33.0	350	1	2					1	1	5	1.43
	5×10 ⁻⁵	16.5	311	2	3	1	1				1	8	2.57
敌 菌 丹 ^b	1×10 ⁻⁵	3.49	338	17	45	18	4			1	15	100	29.59**
	1×10 ⁻⁶	0.349	350	8	3	2						13	3.71
南 枝 净 ^b	3×10 ⁻⁴	73.2	320	3	3	1		2				9	2.81
	1×10 ⁻⁴	24.4	326	2	4	1	1				2	10	3.07
敌 枯 双 ^b	5×10 ⁻⁵	10.7	154	8	4	3	1				2	18	11.69**
对照(二甲亚砜)			497	1	6						2	9	1.81

^a 溶于培养基; ^b 溶于二甲亚砜。

** t 检验, $P < 0.001$

一、染色体畸变

四种有机磷杀虫剂的9个剂量组,除马拉硫磷 $33.3\mu\text{g}/\text{ml}$ 组染色体畸变率低于对照组外,其余8个剂量组诱发的染色体畸变率均比对照组高,但无统计学意义。其诱发染色体结构畸变活性的趋势依次为:甲基对硫磷>乙酰甲胺磷>甲胺磷>马拉硫磷。三种杀菌剂中,敌菌丹是诱发染色体畸变最强的诱变剂,其次是敌枯双。敌枯双为已知的诱变剂(施立明,贺维顺等,1980;贺维顺,刘爱华等,1981),在本实验中将其作为阳性对照药物。敌菌丹和敌枯双的畸变细胞率,经统计学处理均极为显著。菌核净的畸变细胞率与对照组相比无显著差异(见表2)。

畸变类型除化学诱变后常见的染色单体断裂、等染色单体断裂外,还出现各种类型不对称的染色单体互换和对称性的染色单体互换,环状染色体,双着丝点、三着丝点及罕见的四着丝点染色体等(见图3)。

二、SCE

七种农药中的五种是赤麂离体细胞SCE的诱导物。其中以敌菌丹为最强(见图1)。诱发SCE(每细胞的平均数)的顺序为:敌菌丹>敌枯双>乙酰甲胺磷>甲基对硫磷>甲胺磷。菌核净和马拉硫磷亦不同程度地引起SCE增高,但无统计学意义(见表3)。

表3 七种农药诱发赤麂离体细胞的SCE

农药名称	药物浓度		观察 细胞数	每个细胞平均SCE数	
	M	$\mu\text{g}/\text{ml}$		范围	$\bar{x} \pm S.E.$
甲胺磷 ^a	3×10^{-4}	42.3	50	7~25	$12.08 \pm 0.58^*$
	1×10^{-4}	14.1	50	5~23	11.72 ± 0.57
	3×10^{-5}	4.23	50	3~24	11.82 ± 0.61
对照(培养基)	0	0	50	2~17	9.90 ± 0.51
乙酰甲胺磷 ^b	3×10^{-4}	54.9	105	5~24	$13.92 \pm 0.40^{**}$
	1×10^{-4}	18.3	100	2~23	12.75 ± 0.41
甲基对硫磷 ^b	1×10^{-4}	26.3	100	6~21	12.67 ± 0.36
	5×10^{-5}	13.2	100	4~30	$13.80 \pm 0.47^*$
马拉硫磷 ^b	1×10^{-4}	33.0	100	5~23	13.05 ± 0.43
	5×10^{-5}	16.5	100	2~24	12.87 ± 0.41
敌菌丹 ^b	1×10^{-5}	3.49	50	38~105	$60.52 \pm 2.23^{**}$
	1×10^{-6}	0.349	50	5~28	$14.26 \pm 0.81^*$
菌核净 ^b	3×10^{-4}	73.2	100	5~29	12.56 ± 0.46
	1×10^{-4}	24.4	100	4~23	12.39 ± 0.37
敌枯双 ^b	5×10^{-5}	10.7	33	9~29	$14.91 \pm 0.78^{**}$
对照(二甲亚砜)			150	4~22	11.99 ± 0.33

^a 溶于培养基; ^b 溶于二甲亚砜。

* t检验, $P < 0.01$; ** t检验, $P < 0.001$

三、细胞周期动力学变化

仅敌枯双组的细胞周期有显著的改变,其 M_1 达37.71%, M_{3+} 为11.43%。对照组(二甲亚砜) M_1 为18.88%, M_{3+} 为34.52%。表明敌枯双对赤麂离体细胞的细胞周期有较强的延迟效应,提示DNA合成可能受阻。在本次实验中其他农药则未见有明显影响(见表4)。

由上述对赤麂离体细胞的实验结果,可以认为,敌菌丹、敌枯双是对赤麂离体细胞具有很强活性的诱变剂;甲基对硫磷、乙酰甲胺磷和甲胺磷显示出不同程度的诱变性,但远较敌菌丹和敌枯双为弱;而马拉硫磷和菌核净在本实验中无诱变效应。

表4 七种农药处理培养的赤麂细胞后细胞周期动力学的变化

代号	药物名称	药物浓度		各周期细胞的百分数(%)			观察细胞总数(个)
		M	$\mu\text{g/ml}$	M_1	M_2	M_{3+}	
A	甲胺磷 ^a	3×10^{-4}	42.3	17.17	45.43	37.40	361
B		1×10^{-4}	14.1	14.84	40.11	45.05	364
C		3×10^{-5}	4.23	14.04	39.23	46.13	302
D	对照(培养基)	0	0	13.16	44.26	42.58	357
E	乙酰甲胺磷 ^b	3×10^{-4}	54.9	31.33	46.20	22.47	316
F		1×10^{-4}	18.3	24.15	41.97	23.88	448
G	甲基对硫磷 ^b	1×10^{-4}	26.3	23.70	42.21	24.19	443
H		5×10^{-5}	13.15	24.82	47.66	27.52	407
I	马拉硫磷 ^b	1×10^{-4}	33.0	26.48	49.64	23.88	423
J		5×10^{-5}	16.5	26.55	53.39	20.06	339
K	敌菌丹 ^b	1×10^{-5}	3.49	25.67	51.59	22.74	409
L		1×10^{-6}	0.349	19.33	46.78	33.89	367
M	菌核净 ^b	3×10^{-4}	73.2	26.89	44.91	28.20	383
N		1×10^{-4}	24.8	27.12	47.41	25.47	424
O	敌枯双 ^b	5×10^{-5}	10.7	37.71	50.86	11.43	175
P	对照(二甲亚砜)			18.88	46.60	34.52	588

a 溶于培养基;

b 溶于二甲亚砜。

讨 论

一、有机磷杀虫剂在农用杀虫剂中占主导地位,其对DNA的烷化作用所致的遗传学危害不容忽视。据报道,甲基对硫磷在大肠杆菌(G. Mohn, 1973),急性中毒者(Van Bao, T. et al., 1974; Yoder, J. et al., 1973)及中国地鼠V79细胞(H. H. Chen et al., 1981) SCE试验中均为阳性,但未使人的淋巴细胞系和小鼠骨髓细胞染色体畸变率增高(Huang, 1973)。本实验亦得类似结果。甲基对硫磷能明显地诱发赤麂

离体细胞 SCE ($P < 0.01$)；染色体畸变细胞率与对照组相比虽无显著差异，但畸变类型多，除断片外，还诱发各种类型的染色单体互换，双着丝点和四着丝点染色体。曾有关于乙酰甲胺磷在大肠杆菌 WP2 uvrA 回变试验 (David J. Brusick et al., 1980)、小鼠骨髓细胞染色体畸变试验和 Ames 试验 (加和不加 S9) 中呈阴性 (浙江医科大学 1981) 的报道；我们曾用甲胺磷对小鼠骨髓细胞进行诱发染色体畸变和微核试验，未见诱发活力 (待发表)。但在本实验中，这两种农药均诱发 SCE ($P < 0.001$; $P < 0.01$)，亦能诱发多种类型的染色体畸变。本实验结果表明，甲基对硫磷，乙酰甲胺磷，甲胺磷对赤麂离体细胞具有一定的诱变效应。至于马拉硫磷的诱变性，文献报道不一。Simmon 使用 8 种短期试验系统，马拉硫磷均为阴性 (Simmon' 1978, in Chen et al., 1981)；在微生物和酵母实验中未见有能觉察到的遗传学效应 (in D. Wild, 1975)；亦未使人的淋巴细胞系和小鼠骨髓细胞染色体畸变率增加。然而在喷药季节的工人和急性中毒者淋巴细胞培养及人淋巴细胞加药培养试验中能引起染色体畸变率增加 (Yoder et al., 1973; Van Ban et al., 1974; Z. Walter et al., 1980)，在中国地鼠 Don-6、V79 及人 HE 2144 细胞 SCE 试验中能诱发 SCE 增加 (M. Sasaki et al., 1980; H. H. Chen et al., 1981)。

本实验结果表明，马拉硫磷对赤麂离体细胞的诱发活性为四种有机磷中最弱的一种。

二、敌菌丹被认为是碱基置换型 (base-substituted type) 诱变剂 (in M. Moriya et al., 1978)。在人的 HE 2144 细胞和中国地鼠 Don-6 细胞中诱发染色体断裂，SCE 和微核 (M. Sasaki et al., 1980)，在中国地鼠 V79 细胞中诱发 SCE (白须泰彦等, 1980)。敌菌丹对赤麂离体细胞的诱变性也极强，能高度诱发染色体畸变和 SCE，畸变类型繁多，每细胞 SCE 平均 60 余次，最多的竟达 105 次。按照诱变剂和致癌剂的关系，能否认为敌菌丹致癌？然而迄今的慢性毒性研究并未发现其致癌性。M. Moriya 等 (1978) 的实验表明，敌菌丹对肝匀浆、半胱胺和血液非常敏感。据此，它们对敌菌丹在动物致癌试验中得阴性结果提出以下解释：一是敌菌丹为食物中、更可能是为胃中含有的巯基化合物所解毒；二是即使敌菌丹从胃肠道被吸收，也可能迅速地为血液所破坏。慢性投药不致癌，反映出敌菌丹在动物体内是极不稳定的 (M. Moriya et al., 1978)。

三、众所周知，农药对哺乳动物细胞无论是在体内还是在体外，其细胞毒性往往是很高的。在农药诱发哺乳动物细胞的遗传学活性实验中，高浓度常使存活的细胞 (或动物) 数大大减少而导致试验失败。浓度较低时，又会因检测指标灵敏度不高而不能检出其诱变性。已有的试验表明 SCE 分析对于检出这类高毒化合物的诱变效应是有效的。H. H. Chen 等 (1981) 用 8 种有机磷杀虫剂对中国地鼠 V79 细胞进行诱变试验，染色体畸变率均未见有意义的增加；但在 SCE 测试系统中，有 6 种有机磷杀虫剂呈阳性结果。在我们的试验中，甲基对硫磷等四种有机磷杀虫剂诱发的赤麂二倍体细胞染色体畸变率和对照组相比差异不显著，但在 SCE 的测试系统中有 3/4 为阳性，其结果与 H. H. Chen 等的结果一致，说明 SCE 技术对于检出高毒化合物的细胞遗传毒理学效应是相当灵敏的。

四、在本实验中，仅敌枯双显著诱发细胞周期延迟。其他农药，即使是诱变性很强

的敌菌丹亦无明显的细胞周期延迟效应,这可能与影响细胞周期变化的因素较多、以及与本实验加入待测农药的时间有关。故相对于SCE和染色体畸变分析而言,细胞周期动力学这一指标敏感性较低。

参 考 文 献

- 贺维顺,刘爱华等 1980 一种简易的姐妹染色单体分化方法——紫外线照射加Giemsa染色(UPG),自然杂志 8:638.
- 施立明,贺维顺等 1980 赤鹿离体细胞测定化合物诱变活力的研究. 动物学研究, 1(3):297—302.
- 贺维顺,刘爱华等 1981 农药敌灭灵诱发的染色体畸变和姐妹染色单体交换的研究 动物学研究, 2(2): 113—118.
- 浙江医科大学 1981 农药研究报告选集. 科学技术文献出版社, 749—750, 753—754.
- Beek, B. et al. 1979 Sister-chromatid exchanges in human leukocyte chromosomes. Spontaneous and induced frequencies in early- and late-proliferating cells in vitro. *Hum. Genet.*, 49:51—61.
- Chen, H. H. et al. 1981 Induction of sister-chromatid exchanges and cell cycle delay in cultured mammalian cells treated with eight organophosphorus pesticides. *Mutation Res.*, 88(3):307—316.
- Craig-Holmes, A. P. et al. 1976 Cell-cycle analysis in asynchronous cultures using the BUdR-Hoechst technique. *Exp. Cell Res.*, 99:79—87.
- David J. Brusick et al. 1980 An evaluation of the Escherichia Coli Wp2 and Wp2 uvrA reverse mutation assay. *Mutation Res.*, 76(2):169—190.
- Huang, C. C. 1973 Effect on growth but not on chromosomes of the mammalian cells after treatment with three organophosphorus insecticides. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 142:36—40.
- Ishidate, Jr, M. et al. 1977 Chromosome treats with 134 compounds on chinese hamster cell in vitro-A Screening for chemical carcinogens. *Mutation Res.*, 48:337.
- Juliet R. Honeycombe 1978 The effects of busulphan on the chromosomes of normal human lymphocytes. *Mutation Res.*, 57(1):35—49.
- Mohn, G. 1973 5-Methyltryptophan resistance mutations in Escherichia coli K12. Mutagenic activity of monofunctional alkylating agents including organophosphorus insecticides. *Mutation Res.*, 20:7—15.
- Moriya, M. et al. 1978 Effects of cysteine and a liver metabolic activation system on the activities of mutagenic pesticides. *Mutation Res.*, 57(2):259—263.
- Sasaki, M. et al. 1980 Cytogenetic effects of 60 chemicals on cultured human and Chinese hamster cells. 染色体-20:574—583. TOKYO.
- Tice, R. et al. 1976 The utilization of bromodeoxyuridine incorporation into DNA for the analysis of cellular kinetics. *Exp. Cell Res.*, 102:232—236.
- Van Bao, T. et al. 1974 Chromosome aberrations in patients suffering acute organic phosphate insecticide intoxication. *Humangen.*, 24:33—57.
- Walter, A. et al. 1980 Effect of Malathion on the genetic material of human lymphocytes stimulated by phytohemagglutinin (PHA). *Human Genetics.*, 53(3):357—381.
- Wild, D. 1975 Mutagenicity studies on organophosphorus insecticides. *Mutation Res.*, 52(2):133—150.
- Voder, J. et al. 1973 Lymphocyte chromosome analysis of agricultural workers during extensive occupational exposure to pesticides. *Mutation Res.*, 21:325—440.
- 白須泰彦, 吐山豊秋 1983 毒性試験 ハンドブック, フジ・テクノシステム(株) 241,

EFFECTS OF SEVEN PESTICIDES ON CHROMOSOME ABERRATION, SISTER-CHROMATID EXCHANGE AND CELL-CYCLE KINETICS CHANGE IN CULTURED RED MUNTJAC CELLS

He Weishun, Liu Aihua and Bao Haixian

(Department of Cytogenetics, Kunming Institute of Zoology, Academia Sinica)

Chen Yongguang

(Department of Pesticides, Zhejiang Institute of Chemical Industry)

Possible mutagenic activities of 4 organophosphorus insecticides (methyl-parathion, methamidophos, acephate, malathion) and 3 agricultural fungicides (captan, dimethachlon, dikushuang) in the culture of Red Muntjac (*Muntiacus muntjak*) diploid cells were investigated using assays for chromosome aberration, sister-chromatid exchanges (SCEs) and cell-cycle delay.

The experimental results revealed that 4 organophosphorus insecticides induced several types of chromosomal aberration, though the rates of chromosomal aberration did not show any remarkable increase, but 3 of the 4 organophosphorus insecticides induced significant increase of frequencies of SCE, the induction in decreasing order of SCE was acephate, methyl-parathion, methamidophos, the activities of captan and dikushuang were the strongest in inducing SCE and chromosomal aberration among 7 pesticides, captan was stronger than dikushuang. The number of SCE and rate of chromosomal aberration induced by captan are as high as $60.52 \pm 2.23/\text{cell}$ and 29.59% respectively at the highest dose group, the sister chromatids per cell exchange to a great degree and many types of chromosomal aberration were induced. However the effect on cell cycle delay was seen clearly only at dikushuang group.

It may be considered that captan and dikushuang are very strong chemical mutagens, while methyl-parathion, acephate and methamidophos are weak chemical mutagens, Malathion and dimethachlon show no mutagenicity on Red Muntjac cells in vitro under our experimental conditions.

贺维顺等:

七种农药诱发赤鹿离体细胞染色体畸变、姐妹染色单体交换和细胞周期动力学变化的效应

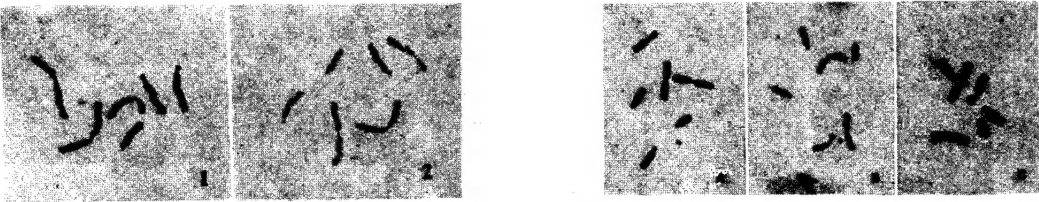


图1.在赤鹿 (*M. muntjac*) 细胞有丝分裂染色体中的姐妹染色单体交换 (SCE) , (1) 未加处理的, (2) 用敌菌丹 (3.49 µg/ml) 处理的。

图2. 赤鹿 (*M. muntjac*) 细胞细胞周期示意图。(A) 第一细胞周期 (100% 染色质单链为BudR 所取代), (B) 第二细胞周期 (50% 染色质单链和50% 染色质双链为BudR所取代); (C) 第三细胞周期 (按均数, 25% 染色质单链和75% 双链为BudR所取代)。



图3. 在赤鹿 (*M. muntjac*) 细胞中农药诱发的染色体畸变:

a. 染色单体断裂, 等染色单体断裂; b. c. d. e. f. g. h. i. j. k. l. 不对称性染色单体互换; m. 对称性染色单体互换; n. 复合染色单体互换; o. q. t. 双着丝点染色体; p. q. 三着丝点染色体; r. 四着丝点染色体; p. s. t. u. 环形染色体。

郭健民等:

用碱性品红染色法显示涡鞭毛虫的染色体

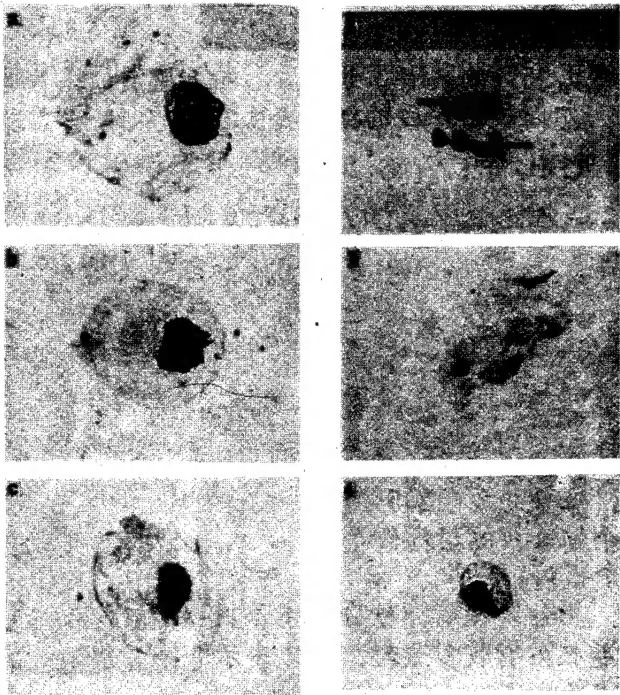


图1. 用不同染色程序显示的 *Prorocentrum micans*. a. 醋酸—碱性品红染色法 (ABF); b. 石碳酸—碱性品红染色法 (CBF);

c. Feulgen 染色法。图2. 石碳酸—碱性品红 (CBF) 染色的 *Glenodinium foliaceum*. ➡ 示甲藻型细胞核; ➡ 示真核型细胞核。图3. 石碳酸—碱性品红 (CBF) 染色的 *Oxyrrhis marina*. 图4. 石碳酸—碱性品红 (CBF) 染色的 *woloszynskia coronata*.